

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 09-157266

(43) Date of publication of application : 17.06.1997

(51) Int.Cl. C07D303/36
 A61K 31/335
 A61K 31/335
 C12P 17/02
 //C12P 17/02
 C12R 1:01)

(21) Application number : 07-315542

(71) Applicant : MICROBIAL CHEM RES FOUND

(22) Date of filing : 04.12.1995

(72) Inventor : TAKEUCHI TOMIO

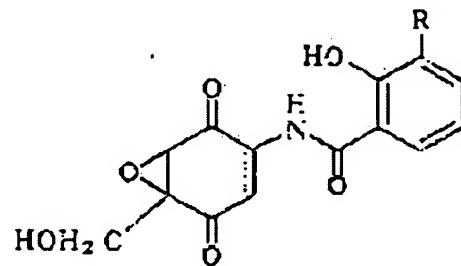
TSUCHIDA TOSHIO
 NAKAMURA HIKARI
 IINUMA HIRONOBU
 SAWA TSUTOMU
 OSANAWA HIROSHI
 HAMADA MASA

(54) NEW ANTIBIOTIC EPOXYNOMICIN A AND B AND THEIR PRODUCTION

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain new antibiotics, epoxynomicin A and B, exhibiting antitumor activities and antibacterial activities against gram-positive bacteria including methicillin-resistant bacteria.

SOLUTION: Antibiotics, epoxynomicin A and B, of the formula (R is chlorine and H in the epoxynomicin A and B, respectively). The epoxynomicin A has the following physicochemical properties. Appearance and properties: pale yellowish powder, weakly acidic substance; melting point: 168-173°C (decomposition); specific rotation: $[\alpha]$ D25+44.6° (C 0.51, methanol); Rf value of TLC: 0.28; high resolution mass spectrum: experimental value: 332.0136 (M-H), calculated value: 332.0118; molecular



formula: C₁₄H₁₀NO₆Cl; UV light spectrum: λ_{max} nm () 236 (sh,8900), 255 (sh,5900), 325 (sh, 8000), 370 (sh, 2700) (methanol solution). The compound of the formula is obtained by culturing an epoxynomicin A and B-producing fungus [Amycolatopsis sp. MK 299-95F4 (FERM P-15243)] belonging to the genus Amycolatopsis in a nutritive medium under an aerobic condition.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本特許庁 (JP)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-157266

(43)公開日 平成9年(1997)8月17日

(5)(i)inCl*	重別記号	序内整理番号	F 1	技術表示所
C 07 D 303/36	ADU	C 07 D 303/36	A 61 K 31/335	ADU
A 61 K 31/335	ADZ	A 61 K 31/335	C 12 P 17/02	ADZ
C 12 P 17/02	// (C 12 P 17/02	C 12 P 17/02		

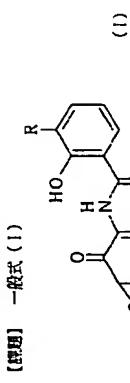
(21)出願番号	特開平7-315542	(71)出願人	00017393	明細書
(22)出願日	平成7年(1995)12月4日			東京法出願生化研究所
(72)発明者	竹内 富雄			東京都新宿区1丁目14番23号
	(72)発明者	竹内 富雄		
	(72)発明者	竹内 富雄		ユーフジマンシヨウ(01)
	(72)発明者	土田 外志夫		神奈川県相模原市中央2丁目3番24号ハ
	(72)発明者	一モニ矢部		モニ矢部201号
	(72)発明者	中村 光		東京都台東区八谷2丁目29番地9号
	(74)代理人	弁理士 八木田 茂(外2名)		
	(74)代理人	弁理士 八木田 茂(外2名)		

(54)【発明の名前】 新規抗生物質エボキシノマイシンAおよびBとその製造方法

(57)【要約】

【発明】 メチル化活性を含むグラム陽性菌に対する抗活性および抗腫瘍活性を示す新しい分子骨格を有する抗生物質を提供する。

【課題】 一般式(1)



(式中、RはエボキシノマイシンAでは塩素原子を示し、またエボキシノマイシンBでは水素原子を示す)で表わされる化合物であるエボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンB、あるいはこれらの塩が使用される。

【発明の属する技術分野】 本発明は、抗活性および抗腫瘍活性を示す新規抗生物質エボキシノマイシンAおよびBとその製造方法に関するものである。

【発明の詳細な説明】

(0001) 【発明】

【発明】

【発明】

【発明】

【発明】

【発明】

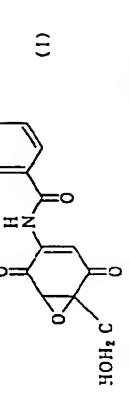
とは、異なる化学構造を有し且つ優れた抗活性を示す新しい化合物の発見または創製することはあるが、それらの研究が行われている。また抗腫瘍性物質は、一般に強い毒性を持つものが多く、その抗腫瘍剤としての使用に当たつて大きな制約となっている。そこで、毒性が低く且つ新規な化学構造を有する抗腫瘍性物質を見出することは常に望まれており、そのための研究が行われている。

【0004】

【課題】解消するための手段】 本発明者は、上記の要望に応えることができる抗活性及び抗腫瘍活性を持つ新規な抗生物質を提供することを目的に、從来より有用な抗生物質の開発と実用化の研究を併せてきた。その結果、土壤試料から新規な微生物としてアミコラトブンス属に属する菌株を分離することに成功し、またこの菌株が新しい抗活性を持する複数の抗活性及び抗腫瘍活性を生産してこられ新規抗生物質2種を発見することに成功し、それぞれにエボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンBと命名した。更に、これらの新規抗生物質が柔軟耐静菌(メチル化活性等)をふくむグラム陽性菌に対する抗活性を示し、また癌細胞の増殖に対して抑制活性を示すことを見出した。

【0005】 すなわち、第1の本発明においては、次の

一般式(1) :



(式中、RはエボキシノマイシンAでは塩素原子を示し、またエボキシノマイシンBでは水素原子を示す)で表わされる化合物であるエボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンB、あるいはこれらの塩が使用される。

【0006】 エボキシノマイシンAおよびBは、既報生物質であり、それらの塩としては、第4級アソモニウム塩などの新規塩基との塩、あるいは各種金属との塩、例えばナトリウムのようないアルカリ金属との塩があり、これらの塩も上記の抗活性と抗腫瘍活性を有する。

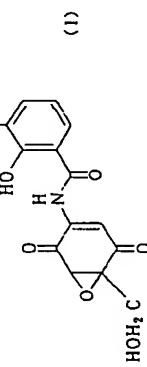
【0007】 次に、抗生物質エボキシノマイシンAおよびBの理化学的性状を記載する。

【0008】 (I) エボキシノマイシンAの理化学的性状

A) 外観及び性質：淡黄色粉末、弱酸性物質
B) 鹿点：168-173°C (分解)
C) 比旋光度：(a) +44.6° (c 0.51, メタノール)D) TLCのRf値：0.28
シリカゲル (Art. 105715, メルク社製) の留出クロマト

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の一式(1) :



(式中、RはエボキシノマイシンAでは塩素原子を示し、またエボキシノマイシンBでは水素原子を示す)で表わされる化合物である抗生物質エボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンB、またはそれらの塩。

【請求項2】 アミコラトブンス属に属する、請求項1に記載のエボキシノマイシンAおよびBの生産地を示す。

【請求項3】 抗生物質エボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンBの製造法。

【請求項4】 抗生物質エボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンBを有する特性を持つアミコラトブンス属に属する抗腫瘍剤。

【請求項5】 抗生物質エボキシノマイシンAおよびエボキシノマイシンBを有する特性を持つアミコラトブンス属に属する抗腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

(0001) 【発明】

【発明】 本発明は、抗活性及び抗腫瘍活性を示す新規抗生物質エボキシノマイシンAおよびBとその製造方法に関するものである。

【0002】 【発明】 種々な多数の抗活性物質が知られている。

【0003】 【発明】 本発明は、多剤耐性菌の出現は重大な問題である。從来において、多剤耐性菌の出現は既存の抗活性化合物

が発現しているが、本発明で示す新規抗生物質は、従来知られていないまたは使用されていない既存の抗活性化合物

を有する抗活性である。

3

(3)

4

6

グラフィーで屈折率線としてクロロホルム-メタノール

E) マススペクトル (m/z) : 324 (M+H)⁺,322, 324 (M-H)⁻.

F) 紫外機能マススペクトル: 実験値

計算値 322.0118

G) 分子式: $C_{11}H_{10}NO_3$ C 1 H) 紫外機能吸収スペクトルの図4に示す。v_{max} (cm⁻¹) 3450, 1710, 1670, 1600, 1520, 1460, 1340, 1230(1) メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトル (CD₃OD/TMS): 添付図面の図1に示す。主なビーカーは次のとおりである。 λ_{max} nm (ε) 236 (sh, 3890), 255 (sh, 5900), 325 (800), 370 (sh, 2700)

(ii) 0.01N NaOH-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図2に示す。主なビーカーは次のとおりである。

 λ_{max} nm (ε) 234 (sh, 11600), 257 (sh, 5100), 327 (830), 371 (sh, 4400)

(iii) 0.01N HCl-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図3に示す。主なビーカーは次のとおりである。

 λ_{max} nm (ε) 251 (6700), 322 (8500)

I) 紫外機能吸収スペクトル (KBr錠剤法): 添付図面の図7に示す。主なビーカーは次のとおりである。

E) マススペクトル (m/z) : 289 (M⁺) , 288 (M-H)⁻

F) 紫外機能マススペクトル: 実験値

計算値 290.0664

G) 分子式: $C_{11}H_{10}NO_4$

H) 紫外機能吸収スペクトル: (ε) 237 (6100), 253 (sh, 5400), 326 (6300)

(1) メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルを添付図面の図7に示す。主なビーカーは次のとおりである。

 λ_{max} nm (ε) 235 (9100), 259 (sh, 4000), 324 (5800), 376 (sh, 3400)

(ii) 0.01N NaOH-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図8に示す。主なビーカーは次のとおりである。

 λ_{max} nm (ε) 235 (9100), 259 (sh, 4000), 324 (5800), 376 (sh, 3400)

(iii) 0.01N HCl-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図9に示す。主なビーカーは次のとおりである。

I) 紫外機能吸収スペクトル (KBr錠剤法): 添付図面の図10に示す。

K) ¹H-NMRスペクトル (CD₃OD/TMS) 添付図面の図12に示す。

(1) 0.01N NaOH-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図8に示す。主なビーカーは次のとおりである。

 λ_{max} nm (ε) 235 (9100), 259 (sh, 4000), 324 (5800), 376 (sh, 3400)

(ii) 0.01N HCl-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図9に示す。主なビーカーは次のとおりである。

I) 紫外機能吸収スペクトル (KBr錠剤法): 添付図面の図10に示す。

L) ¹³C-NMRスペクトル: 実験値

計算値 290.0664

G) 分子式: $C_{11}H_{10}NO_4$ H) ¹³C-NMRスペクトル: (δ) 237 (6100), 253 (sh, 5400), 326 (6300)

(1) 0.01N NaOH-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図8に示す。主なビーカーは次のとおりである。

 λ_{max} nm (ε) 235 (9100), 259 (sh, 4000), 324 (5800), 376 (sh, 3400)

(ii) 0.01N HCl-メタノール浴液中で測定したUV吸収スペクトルは添付図面の図9に示す。主なビーカーは次のとおりである。

I) 紫外機能吸収スペクトル (KBr錠剤法): 添付図面の図10に示す。

L) ¹³C-NMRスペクトル: 実験値

計算値 290.0664

(4)

5

6

(5)

(6)

試験菌	最低抑制濃度 (μg/ml)
エボキシキノマイシンA	エボキシキノマイシンB
スタヒロコッカス・アラレウス FDA 203P	12.5
スタヒロコッカス・アラレウス・スマシス	12.5
スタヒロコッカス・アラレウス 関 9610	50
スタヒロコッカス・アラレウス WSA No.5	25
スタヒロコッカス・アラレウス US 16526	25
スタヒロコッカス・アラレウス TY-0422	50
ミクロコッカス ルチカス FDA 16	12.5
ミクロコッカス ルチカス IFO 3033	3.12
バジルス・アンスラシス	25
バジルス・サチャリス KRL B-558	50
バジルス・セレウス ATCC 10702	25
コリネバクテリウム・ホビス 1810	50
エシェリヒア・コリ NIHJ	100
エシェリヒア・コリ BE 1121	50
シウドモナス・エリギナ A 3	>50
バストレラ・ビシシダ SP. 6395	12.5
バストレラ・ビシシダ SP. 6356	12.5
バストレラ・ビシシダ SP. -347	3.12

【0012】B) 癌細胞増殖抑制活性 al Methods 1 65巻, 55-60頁 (1983) 参照。その結果を表2に示す。

各種の癌細胞を用いて癌細胞の増殖を50%抑制するエボキシキノマイシンAおよびエボキシキノマイシンBの濃度 (IC₅₀ (D)) を、MTT法 (Journal of Immunology (第2回))

供試癌細胞	IC ₅₀ (μg/ml)
エボキシキノマイシンA	エボキシキノマイシンB
マウス白血病 L1230	2.64
マウスカルシノーマ S180	9.67
マウスザルコマ S180	7.67
マウス黑色腫 B16-BL6	7.97

【0014】表1の結果から明らかなように、本実用による抗生物質エボキシキノマイシンAおよびBは、各種の癌細胞に対する抗腫瘍活性または抗癌活性を有するからが選択して有用である。また、表2の結果から明らかなように、エボキシキノマイシンAおよびBは各種の癌細胞の増殖を抑制する抗腫瘍活性を有するからが選択して有用。

たは抗瘧剤として有用である。

7) イースト・モントリオール地 (ISP-1地 2、27°C培

られない。種々の培地で、無色へうす黄茶の発

シシキノマイシンAおよびBを生産するのに使用が利用

【0027】培地における上記のごとき供給源の配合割合は特に制約のなく、広範囲に亘って変える事が可能である。使用するエカルチノマイシンAおよびBカルチノマイシンBの配合割合は、用

ある。
[0023] レーザ UV200-954A 帯の帶体成分は

部位にメソ型の2、6-シアノビペリニン、アラビノース及びガラクトースを含み、細胞壁タイプI型を示す。また、細胞壁中の還元糖はアラビノース、ガラクトースを含むA型であった。グリコロテースの結果はアセチル化がPII型であった。また、ミコール酸は含有せず、リン脂質はホスファチジルエタノールアミンを含みホスファチジルコリン及び未知のダルコサミン含有リン脂質を含まない、主要なメチナノンはMK-9 (H₄) で

6 : 0及67 : 0を主成分とした。
【0024】以上の結果より、WK-299-95F4株はアミコラトビデス(*Actinomycetospora*)属（文献：「International Journal of Systematic Bacteriology」36巻、29-37頁、1986年）に属するものと考えられる。アミコラトビデス属の細胞壁構造はアミコラトビデス(*Actinomycetospora*)文獻2(文獻2) : 上上 : オリジナル文獻2 : 「International Journal of Systematic Bacteria」およびB生産菌の発芽が実質的に阻害されず、該菌 20 うことができる。通常は好気条件下で培養するのが好適であり、振搗しながら及び/又は通風しながら行なうことができる。また、培養方法としては静置培養、振とう培養、通風振搗とともに異なる液内培養のいずれも使用可能であるが、液は培養が重工業化しない人およびBの大量生産に適している。

6: 0及び1: 0を主成分とした。
【0 0 2 4】以上の結果より、WSP-954株はアミコラトブシテラス・シルフリア (*Amicobacter silvaticus*) とされ、アミコラトブシ・スルベニア (*Coprinus subnehiae*) とされた。アミコラトブシテラス・シルフリアは、1868年に属するものと考えられる。

(100-18) 2. 各種場地に於ける生産性
色の記載について (1) 内に示す標準は、コンティナーニューアニチュアル (Container Corporation of America の color harmony manual) を用いた。

(2) ベーナーの加工方法等 (レーナー、無酸素等) いずれも27°C培養

(3) メラニン様色素の生成 (トリプト・イースト・アロス、I S P - 培地 1 : ベブソン・イースト・鐵葉天竺地、I S P - 培地 6 : チロシン酵母天竺地、I S P - 培地 7 : いずれも27°C培養)

21日間の培養で、いずれの培地中においても陰性である。

色質は認められない。

おおよびBの重量比はスチロロコッカス・アクリレース・スチレンによって、通常の抗生物質の定量に用いられる円筒平衡法により定めることができる。
〔002-6〕 かくして培養されたエボギキシノマイシンAおよびBは、これを供試物から採取する。
培養後、必要により 滲過、遠心分離などのそれ自体は公知の分離方法によつて培養物から細胞を除去した後、その培養液を酸性(出2-4)に調整し有機溶浴、特に酢酸エチルなどとの同化できる培养液を使用できる。例えば、ぶどう樹皮などの有機溶浴と酸性の培養液との混合液を、
〔002-6〕 その培养液としては、通常微生物の栄養源として油が使用されるもの、例えば脱脂乳、豆乳源、無脂肪豆乳などの同化できる培养液を使用できる。例えば、ぶどう樹皮などの有機溶浴と酸性の培養液との混合液を、

[0026] その半胱氨酸としては、通常微生物の半胱氨酸として通常使用されるものの、例えば胱氨酸、胱氨酸、無胱氨酸などの同化できる半胱氨酸を用いる。例えば、ぶどう樹皮などに同化する半胱氨酸を用いる。そこで用いる半胱氨酸は、前記の生産菌が貯蔵できる炭素源と窒素源を半胱氨酸として含有するものである。

質を抽出し、上記と同様に由縫解説することができる。
かくして、前記した特性を有する新規抗生物質エボキシ
キノマイシンAおよびBが得られる。

[0032] さらに、第3の本発明では、一般式(1)
で表されるエボキシキンAおよび(または)エ
ボキシキンBまたはそれらの製造物に併せて
記載する組成とする抗腫瘍剤が提供される。

[0033] また、第4の本発明においては、一般式
(1)で表されるエボキシキンAおよび(または)
エボキシキンBまたはそれらの製造物に併せて
記載する組成とする抗腫瘍剤が提供される。

[0034] この抗腫瘍剤または抗腫瘍剤においては、有
効成分としてのエボキシキンAおよび(または)
エボキシキンBあるいはその他の薬理学的に併せて
記載する組成とする抗腫瘍剤が提供される。

[0035] また、第5の本発明では、新規微生物と
して、前記式(1)のエボキシキンAおよび(または)
エボキシキンBまたはアミコラトブシスsp. W2
99-95F4が提供される。

[0036] 本発明は下記の実施例に限定されるも
のではない。

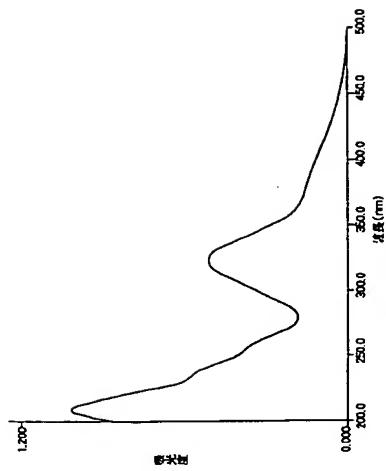
[0037] 実施例1 抗生物質エボキシキノマイシン
AおよびBの製造

グリセリン 2%、ショーコース 2%、大豆粉 1
%、乾燥酵母 1%、コーン・スチーブ・リカ 0.5
%、塩化コバルト(500ml容)に110mlずつ分注し、常
法により120℃で20分加熱した。これらの培地に、
斜面培地に培養したアミコラトブシスsp. W299-95F4
株(FERI P-5243)を接種し、その後30℃で5日間回転
振とう培養した。これにより酵母培養液を得た。

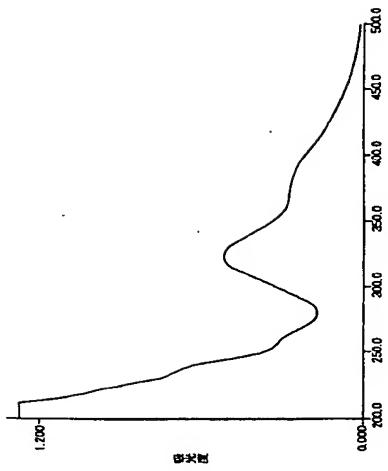
[0038] グリセリン 2%、デキストリン 2%、
バクテーシートン 1%、粉末酵母エキス 0.3%、硫酸
アンモニウム 0.2%、炭酸カルシウム 0.2%、シリコ
ンオイル(量を含む液体培地(pH7.4に調整))を三角フラ
ンコ(500ml容)に110mlずつ分注し、常法により
20℃で20分加熱した。その後、これら培地に、上記酵母培養
液をそれぞれ1mlずつ接種し、27℃で4日間回転振とう
培養した。

[0039] このようにして得られた培養液を通過して
セロソス分離した。培養液液2.55リットルは、6N-HCl
により1mlにした後に酢酸ペチル2.55リットルで抽出
し、酢酸ペチル層を成圧下で濃縮乾固し、残渣をメタノ
ール50mlに溶かしヘキサン30mlで2回洗浄し、メタノ

[図1]



[図2]



ル層を減圧下で濃縮乾固した。

[0040] 待られた残渣をクロロホルム-メタノール
-水(50:10:40, 100ml)で分配し、下層を減圧下で濃縮
乾固すると、茶色の油状物(0.515g)が得られた。この
油状物をシリカガルカラムクロマトグラフィー(Kiesel
gel 60, メルク社製)に付し、トルエン-アセト
ン混合溶媒(10:1, 7:1, 5:1, 3:1, 2:
1)で順次溶出した。得られた活性画分を同条件のシリ
カガルカラムクロマトグラフィーに付し、トルエン-ア
セトン混合溶媒(50:1, 20:1, 10:1, 7:1)で
順次溶出した。エボキシキンAおよびBの混合
物が124mg得られた。この混合物の35%をシリカゲルT
LC(尾澤謙、クロロホルム-メタノール, 20:1)
にかけて分離精製した。

[0041] エボキシキンAが融点 168～173
℃(分解)の淡黄色粉末として20mgの收量で得られ、ま
たエボキシキンAが融点 178～184℃(分解)
の淡黄色粉末として10mgの收量で得られた。

[図面の簡単な説明]

[図1] エボキシキンAのメタノール溶液中の
紫外吸収スペクトルである。

[図2] エボキシキンAのKBr鉱剤法で測定
したアルコール溶液中の紫外吸収スペクトルである。

[図3] エボキシキンAのKBr鉱剤法で測定
した赤外吸収スペクトルである。

[図4] エボキシキンAの重メタノール溶液
中の紫外吸収スペクトルである。

[図5] エボキシキンAの重メタノール溶液
(内部標準:トリメチルシラン)にて測定したプロトン
核磁気共鳴スペクトルである。

[図6] エボキシキンAの重メタノール溶液
(内部標準:トリメチルシラン)にて測定した炭素13核
磁共振共鳴スペクトルである。

[図7] エボキシキンBのメタノール溶液の純
粋な赤外吸収スペクトルである。

[図8] エボキシキンBのメタノール溶液
中の紫外吸収スペクトルである。

[図9] エボキシキンBのKBr鉱剤法で測
定したアルコール溶液中の紫外吸収スペクトルである。

[図10] エボキシキンBのKBr鉱剤法で測
定したがれ濃縮吸収スペクトルである。

[図11] エボキシキンBの重メタノール溶液
(内部標準:トリメチルシラン)にて測定したプロトン
核磁気共鳴スペクトルである。

[図12] エボキシキンBの重メタノール溶液
(内部標準:トリメチルシラン)にて測定した炭素13核
磁共振共鳴スペクトルである。

[図13] エボキシキンBの重メタノール溶液
中の紫外吸収スペクトルである。

[図14] エボキシキンBのKBr鉱剤法で測
定したがれ濃縮吸収スペクトルである。

[図15] エボキシキンBのKBr鉱剤法で測
定したがれ濃縮吸収スペクトルである。

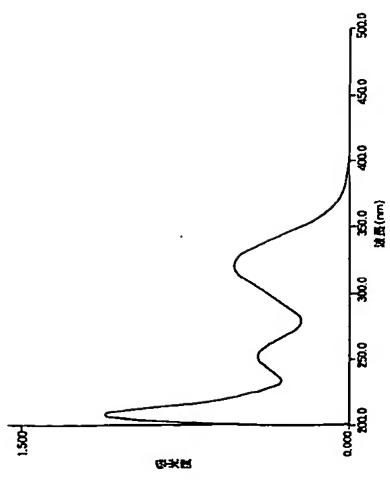
[図16] エボキシキンBの重メタノール溶液
中の紫外吸収スペクトルである。

[図17] エボキシキンBのKBr鉱剤法で測
定したがれ濃縮吸収スペクトルである。

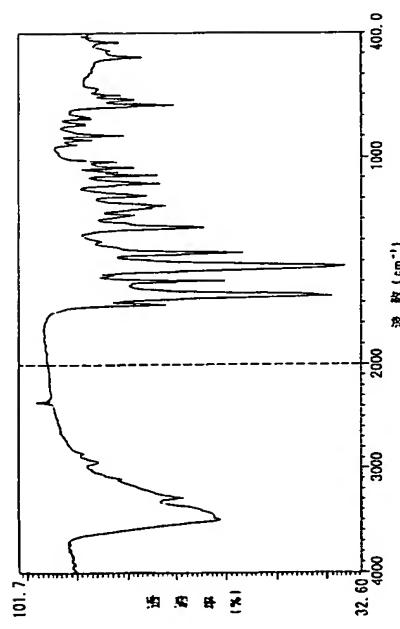
[図18] エボキシキンBの重メタノール溶液
中の紫外吸収スペクトルである。

[図19] エボキシキンBのKBr鉱剤法で測
定したがれ濃縮吸収スペクトルである。

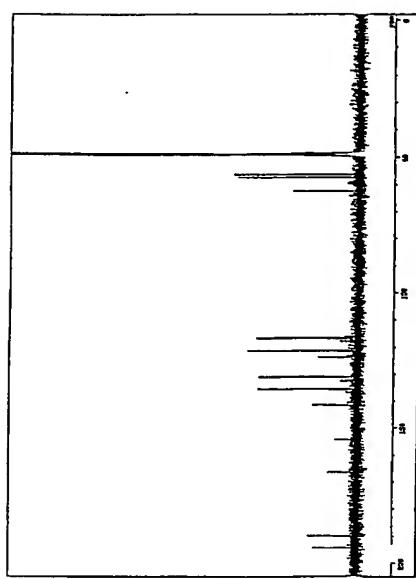
[図3]



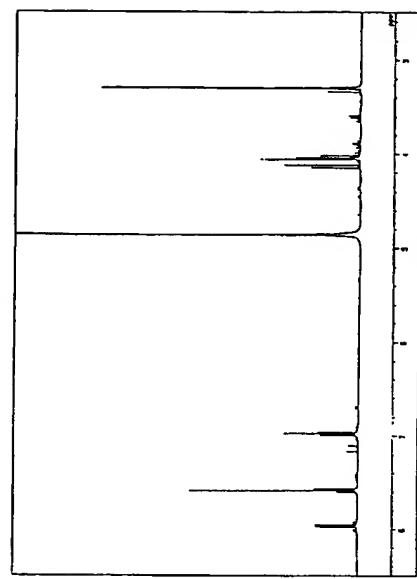
[図4]



[図5]

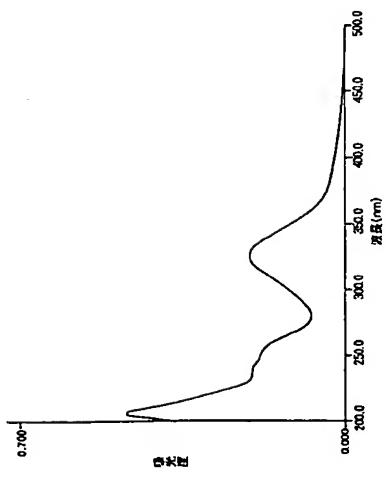


[図6]



(11)

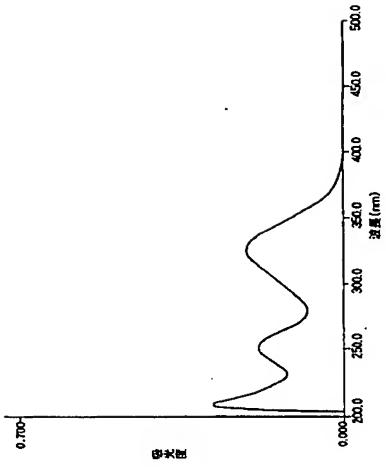
[图7]



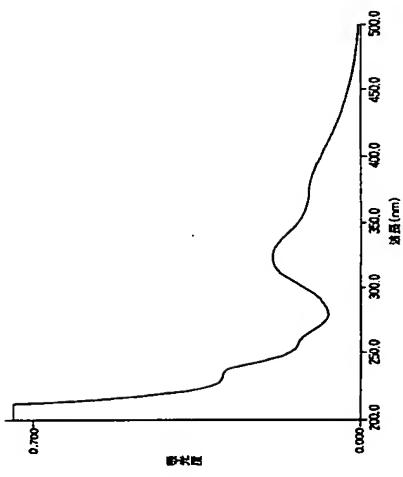
符開平9—157266

(12)

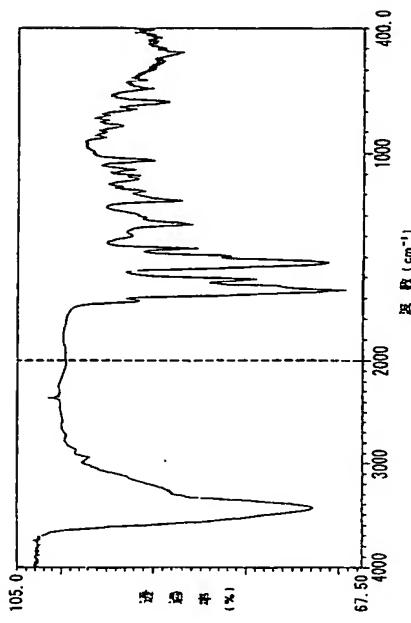
[图9]



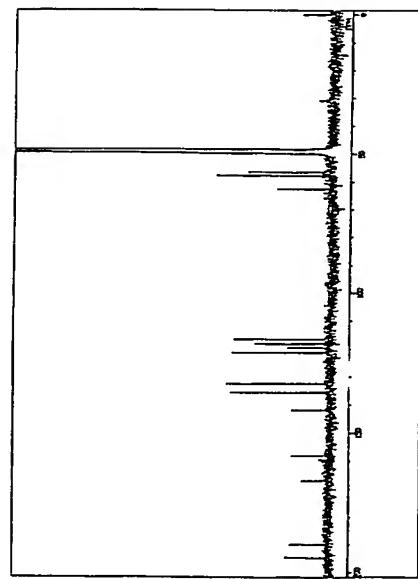
[图8]



[图10]



【図11】



【補正対象項目名】0021

【補正方法】変更

【補正内容】

- (0021) (4) 改善後の利用性(ブリドハム・ゴドリ
ーブ等天培地、ISP-培地9:27°C培養)
(5) リンゴ酸石灰の溶解(リンゴ酸石灰天培地、27°C
培養)
- 培養後10日目頃よりリンゴ酸石灰の溶解が認められ、
その作用は中等度である。
- (6) 酸素反応(0.1%酸素カリウム含むベブトン
水、ISP-培地8、27°C培養)
陰性である。

フロントページの焼き

技術表示箇所

F1

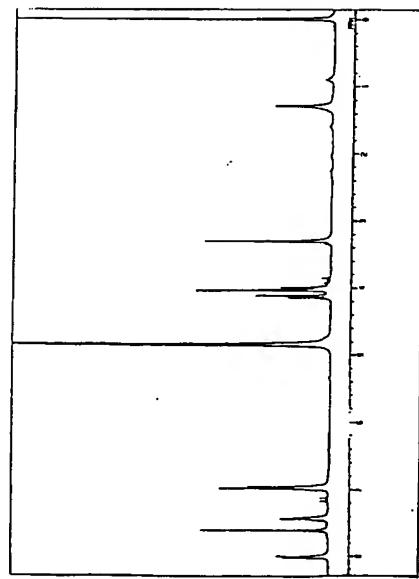
(5) Int Cl. 6
C 1 2 R 1:01)(5) リンゴ酸石灰の溶解 (1) リンゴ酸石灰天培地、27°C
培養)(72)発明者 飯沼 寛信
神奈川県横浜市緑区白山4丁目61番17号

(72)発明者 滝 力

(72)発明者 浅田 雄

(72)発明者 東京都大田区田園調布本町3番17号
東京都新宿区内塙町1番地26 強和レジデンス405号

【図12】



【手続補正】

【提出日】平成8年4月26日

【手続補正】

【補正対象項目名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【手続補正】

【補正対象項目名】明細書

本発明による抗生物質エギンキノマイシンAおよびB
の各種濃度に対する最低発育阻止濃度は、次の表にし
めす通りである。この抗菌スペクトルは日本化学会発行
の標準法に基づき、ミュラーヒントン等天培地で供試
研究法により測定した。

【手続補正】

【補正対象項目名】明細書

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-157266
 (43)Date of publication of application : 17.06.1997

(51)Int.Cl.
 C07D303/36
 A61K 31/335
 C12P 11/02
 //C12P 17/02
 C12R 1:01)

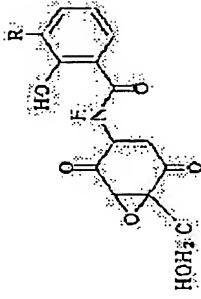
(21)Application number : 07-315542
 (22)Date of filing : 04.12.1995
 (71)Applicant : MICROBIAL CHEM RES FOUND
 (72)Inventor : TAKEUCHI TOMIO
 TSUCHIDA TOSHIRO
 NAKAMURA HIKARI
 INUMA HIRONOBU
 SAWA TSUTOMU
 OSANAWA HIROSHI
 HAMADA MASA

(54) NEW ANTIBIOTIC EPOXYNOMICIN A AND B AND THEIR PRODUCTION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain new antibiotics, epoxynomicin A and B, exhibiting antitumor activities and antibacterial activities against gram-positive bacteria including methicillin-resistant bacteria.

SOLUTION: Antibiotics, epoxynomicin A and B, of the formula (R is chlorine and H in the epoxynomicin A and B, respectively). The epoxynomicin A has the following physicochemical properties. Appearance and properties: pale yellowish powder, weakly acidic substance; melting point: 168-173° C (decomposition); specific rotation: [α] D25+44.6° (C 0.51, methanol); Rf value of TLC: 0.28; high resolution mass spectrum: experimental value: 332.0136 (M+H), calculated value: 332.0118; molecular formula: C14H10NO6Cl; UV light spectrum: λ_{max} nm (ψ): 236 (sh,8900), 255 (sh,5900), 325 (sh, 8000), 370 (sh, 2700) (methanol solution). The compound of the formula is obtained by culturing an epoxynomicin A and B-producing fungus [Amycolatopsis sp. MK 299-95F4 (FERM P-15243)] belonging to the genus Amycolatopsis in a nutritive medium under an aerobic condition.



the examiner's decision of rejection or application converted registration]
 [Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
 [Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
 [Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998.2003 Japan Patent Office

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

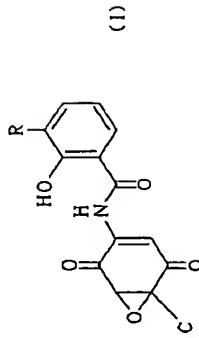
1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.*** shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]



[Claim 1] The following general formula (I) : HOH₂ C

They are the antibiotic epoxy quinomycin A which is expressed with (R showing a chlorine atom by epoxy quinomycin A, and showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin B among a formula) and which is a compound and epoxy kino mycin B, or those salts.

[Claim 2] the manufacturing method of the antibiotic epoxy quinomycin A which cultivates the epoxy quinomycin A according to claim 1 belonging to the Amycolatopsis group, and the production bacillus of B to a nutrition culture medium, and is characterized by extracting epoxy quinomycin A and (or) B from a culture, and (or) epoxy kino mycin B.

[Claim 3] the antimicrobial agent which makes an active principle antibiotic epoxy quinomycin A and (or) epoxy kino mycin B, or those salts.

[Claim 4] the antitumor agent which makes an active principle antibiotic epoxy quinomycin A and (or) epoxy kino mycin B, or those salts.

[Claim 5] Amycolatopsis with the property of producing antibiotic epoxy quinomycin A and epoxy kino mycin B sp.MK299-95F4 Stock.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. *** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

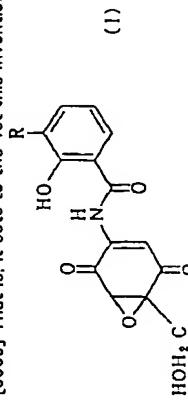
[0001] [Field of the Invention] this invention relates to the manufacturing method of epoxy quinomycin A and (or) epoxy kino mycin B, concerning the new antibiotic epoxy kino mycin (Epoxyquinomycin) A which shows antimicrobial activity and antitumor activity, or anticancer activity and epoxy kino mycin B, or these salts, furthermore, this invention relates to the antimicrobial agent and antitumor agent which make an active principle epoxy quinomycin A and (or) epoxy kino mycin B, or those salts. Moreover, this invention is *Amycolatopsis* as a new microorganism with the property of producing new antibiotic epoxy quinomycin A and B. sp. MK299-99F4 A stock is included.

[0002] [Description of the Prior Art] The antibacterial substance of various large number is known, and the anticancer matter of various large number is known.

[0003] [Problem(s) to be Solved by the Invention] In the chemotherapy of the microbe, the appearance of a drug-resistant strain is a serious problem. To carry out the discovery or the invention of a new compound whose known antibacterial compound currently used or it is known conventionally shows the antimicrobial activity which has the different chemical structure and was excellent is always desired, and research for it is done. Moreover, the anticancer matter has many which generally have strong toxicity, and serves as big constraint in the use as the antitumor agent. Then, toxicity is always wanted to discover or invent the anticancer matter which has the low and new chemical structure, and research for it is done.

[0004] [Means for Solving the Problem] this invention persons have promoted development of an antibiotic more useful than before and research of utilization for the purpose of offering a new antibiotic with the antimicrobial activity and antitumor activity which can meet the above-mentioned request. Consequently, it found out producing two or more antibiotics which succeed in separating the strain which belongs to the *Amycolatopsis* group as a new microorganism from a soil sample, and have a soil skeleton with this new strain. It succeeded in isolating two sorts of these new antibiotics, and each was named epoxy quinomycin A and epoxy kino mycin B. Furthermore, it found out that antimicrobial activity was shown in the gram-positive bacteria with which these new antibiotics contain drug resistance bacteria (methicillin resistant bacteria etc.), and control activity was shown to growth of a cancer cell.

[0005] That is, it sets to the 1st this invention and is the following general formula (1) :



The epoxy quinomycin A which is the compound expressed with (R showing a chlorine atom by epoxy quinomycin A, and showing a hydrogen atom by epoxy kino mycin B among a formula) and epoxy kino mycin B, or these salts are offered.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

[0007] next, antibiotic epoxy quinomycin A and B are physicochemical -- description is indicated.

(1) epoxy quinomycin A is physicochemical -- description -- A appearance and property: -- light yellow fine particles and weak acidic matter B melting point: 168 to 173 degree C (decomposition)

With the thin-layer chromatography of 0.28 silica gel (Art. [05715, Merck Co. make], The Rf value of 25-44.6 degree (c 0.51 methanol) DTLC of specific-rotation:[alpha] D : C) As an expansion solvent. When it developed and measures with a chloroform-methanol (10:1) E mass spectrum (m/z) : [324 326(M+H)+] 322, 324(M+H)+ -calculated value 322.0118G molecular formula: -- C14H10NO6 CH ultraviolet absorption spectrum: -- UV absorption spectrum measured in (i) methanol solution is shown in drawing 1 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.

lambdamax nm (epsilon)235 (sh, 8900), 255 (sh, 5900), 325 (8000). 370(sh, 2700) (ii)0.01N UV absorption spectrum measured in the NaOH-methanol solution is shown in drawing 2 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.

UV absorption spectrum measured in lambda(max) nm (epsilon)234 (sh, 11600), 257 (sh, 5100). 327 (8300), and a 371 (sh, 4400) (iii) 0.01N HCl-methanol solution is shown in drawing 3 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.

UV absorption spectrum measured in lambda(max) nm (epsilon)253 (6700), a 322(8500) I infrared absorption spectrum (KBr briquette method): It is shown in drawing 4 of an accompanying drawing.

nu(max) (cm⁻¹) 3450, 1710, 1670, 1600, 1520, 1460, 1340, a 1230J 13 C-NMR spectrum (CD3 OD/TMS): It is shown in drawing 5 of an accompanying drawing.

K) 1 H-NMR spectrum (CD3 OD/TMS): It is shown in drawing 6 of an accompanying drawing.

[0008] (2) epoxy kino mycin B is physicochemical -- description -- A appearance and property: -- light yellow fine particles and weak acidic matter B melting point: 178 to 184 degree C (decomposition)

With the thin-layer chromatography of 0.52 silica gel (Art. [05715, Merck Co. make], The Rf value of 25-32.2 degree (c 0.51, methanol) DTLC of specific-rotation:[alpha] D : C) As an expansion solvent. When it developed and measures with a chloroform-methanol (10:1) E mass spectrum (m/z) : 285(M+ 288(M+H)- F high-resolution mass spectrum: Experimental value 290.0656(M+H)+ + Calculated value 290.0664G molecular formula: -- C14H11NO6H ultraviolet absorption spectrum: -- UV absorption spectrum measured in (i) methanol solution is shown in drawing 7 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.

lambda(max) nm (epsilon)237 (6100), 253 (sh, 5400), 326(6300) (ii)0.01N The absorption spectrum measured in the NaOH-methanol solution is shown in drawing 8 of an accompanying drawing. The main peaks are as follows.

UV spectrum measured in lambda(max) nm (epsilon)235 (9100), 259 (sh, 4000), 324 (5800), and a 376 (sh, 3400) (iii) 0.01N HCl-methanol solution is shown in drawing 9 of an accompanying drawing.

lambda(max) nm (epsilon)252 (5700), a 327(6500) I infrared absorption spectrum (KBr briquette method): It is shown in drawing 10 of an accompanying drawing.

nu(max) (cm⁻¹) 3430, 1710, 1660, 1610, 1530, 1340, a 1230J 13 C-NMR spectrum (CD3 OD/TMS): It is shown in drawing 11 of an accompanying drawing.

K) 1 H-NMR spectrum (CD3 OD/TMS): it is shown in drawing 12 of an accompanying drawing.

[0009] furthermore, antibiotic epoxy quinomycin A and B are biological -- description is indicated below.

[0010] A) The antibiotic epoxy quinomycin A by antimicrobial activity this invention and the minimum growth inhibition concentration [usually as opposed to the various bacteria on a nutrient agar plate] of B are as being shown in the next table 1. This antimicrobial spectrum was measured with the multiple dilution method by **** and the Mueller HINTON agar medium by the Japanese Society of Chemotherapy standard method.

[0011]
(図1)

試験菌	IC ₅₀ (μg/ml)	
	エボキシキン/マイシンA	エボキシキン/マイシンB
ストレプトロマイシン・アラレウス FIA 209P	12.5	12.5
ストレプトロマイシン・アラレウス・スニズ	12.5	12.5
ストレプトロマイシン・アラレウス HS 9610	50	25
ストレプトロマイシン・アラレウス NRRL No.5	25	25
ストレプトロマイシン・アラレウス HS 16526	25	25
ストレプトロマイシン・アラレウス TY-04282	50	25
ミクロコッカス・ルテウス FIA 16	12.5	25
ミクロコッカス・ルテウス IFD 3333	3.12	6.25
バシリス・アンスラシス	25	12.5
バシリス・サブカリス NRRL B-5538	50	12.5
バシリス・セレウス ATCC 10702	25	12.5
コリキバクテリウム・ボビス 1810	50	50
エシェリヒア・コリ NIIJ	100	50
エシェリヒア・コリ BE 1121	50	50
エシェリヒア・コリ BB 1186	50	50
シダラ・ディセンテリエ JS 11910	50	50
シドモナス・エルギノサ A 3	>50	>50
バストレラ・ビシシダ sp. 6395	12.5	12.5
バストレラ・ビシシダ sp. 6356	12.5	12.5
バストレラ・ビシシダ p-3347	3.12	12.5

(図2)

試験菌	IC ₅₀ (μg/ml)	
	エボキシキン/マイシンA	エボキシキン/マイシンB
マウス白血病 L1200	2.64	16.3
マウスIMCカルシノーマ	9.67	17.9
マウスサルコーマ S180	7.67	
マウス黑色素瘤 B16-BL6	7.97	

[0014] Since the antibiotic epoxy quinomycin A and B by this invention have antimicrobial activity to various kinds of bacteria, they are useful as an antimicrobial agent, so that clearly from the result of Table 1. Moreover, since epoxy quinomycin A and B have the antitumor activity or anticancer activity which controls growth of various kinds of cancer cells, they are useful as an antitumor agent or an anticancer agent, so that clearly from the result of Table 2.

[0015] Furthermore, according to the 2nd this invention, the epoxy quinomycin A of the aforementioned general formula (1) belonging to the Amycolatopsis group and the production bacillus of B are cultivated to a nutrition culture medium, and the manufacturing method of the antibiotic epoxy quinomycin A characterized by extracting epoxy quinomycin A and (or) epoxy kino mycin B from a culture and (or) epoxy kino mycin B is offered.

[0016] As an example of the epoxy quinomycin A which can be used by the approach of the 2nd this invention, and the production bacillus of B, it is Amycolatopsis sp. MK299-95F4 There is a stock. In a microorganism national chemical laboratory, this strain is the Actinomyces separated from the soil of Sendai, Miyagi, and will be the microorganism to which the strain number of MK299-95F4 was given in October, Heisei 6.

[0017] This MK299-95F4 share mycology description is indicated below.

1. Branch gestalt radical viable cell yarn well, and it presents the letter of zigzag. Moreover, fragmentation is accepted. Aerial mycelia have the shape of direct, and the shape of irregular music, and are divided in the fragment of a cylindrical shape - an ellipse, or the spore's structure. The front face is smooth and magnitude is abbreviation. It is 0.4 to 0.6x1.1-1.6 microns, a whorl branch, ******, and a spore obtain and a movement sexual spore is not accepted.

[0018] 2. The color harmony manual (color harmony manual of Container Corporation of America) of the container corporation OBU United States was used for the criterion shown in [] about the publication of the growth condition color in various culture media.

(1) Sucrose and a nitrate agar medium (27-degree-C culture)

On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

(2) Glucose asparagine agar medium (27-degree-C culture)

Growing white aerial mycelium on growth of light yellow [2ea, Lt Wheat-2gc, Bamboo], soluble coloring matter wears yellow.

(3) Glycerol asparagine agar medium (5 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)

Growing white aerial mycelium on growth of light yellow tea [2lg, Mustard Tan] - gray tint yellow-brown [3lg, Adobe Brown], soluble coloring matter presents light yellow tea.

(4) Starch and a mineral salt agar medium (4 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)

On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

[0019] (5) Thymosin agar medium (7 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)

Growing white aerial mycelium on growth of light yellow tea [2lg, Mustard Tan] - gray tint yellow-brown [3lg, Adobe Brown], soluble coloring matter presents light yellow tea.

(6) Nutrient agar medium (27-degree-C culture)

White aerial mycelium is slightly grown on growth of light yellow [2ea, Lt Wheat], and soluble

coloring matter is not accepted.

(7) Yeast and a malt-agar culture medium (2 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
White aerial mycelium is slightly grown on growth of light yellow tea [sic. Lt Amber], and soluble coloring matter is not accepted.

(8) Oatmeal agar medium (3 or 27 degrees-C culture of ISP-culture media)
White aerial mycelium is slightly grown on growth of colorlessness - light yellow [1 1/2ca. Cream], and soluble coloring matter is not accepted.

(9) Starch agar medium (27-degree-C culture)
On aeroles growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

(10) Malic-acid lime agar medium (27-degree-C culture)

On colorless growth, white aerial mycelium is grown slightly, and soluble coloring matter is not accepted.

[0020] 3. Physiological property (1) As a result of examining using a growth temperature requirement glucose asparagine agar medium (glucose 1.0% and L-asparagine 0.05%, potassium phosphate 0.05%, string agar 3.0%, pH7.0) at each temperature of 10 degrees C, 20 degrees C, 24 degrees C, 27 degrees C, 30 degrees C, 37 degrees C, and 50 degrees C, growth at 10 degrees C and 50 degrees C was not accepted, but be grown in 20 degrees C - 37 degrees C. Growth optimum temperature is considered to be near 27 degree C.

(2) Hydrolysis of starch (starch and a mineral salt agar medium, the ISP-culture medium 4 and a starch agar medium, and all are cultivated 27 degrees C)

In the culture for 21 days, it is negative also in which culture medium.

(3) Generation of melanin Mr. coloring matter (tryptophan yeast broth, ISP-culture-medium 1-peptone yeast and an iron agar medium, an ISP-culture-medium 6; thymosin agar medium, the ISP-culture medium 7; all are cultivated 27 degrees C)

Also in which culture medium, it is negative.

[0021] (4) Availability of a carbon source (9; 27 degrees-C culture of PURIDOHAMU GODORIBU agar-medium and ISP-culture media)

It grows using D-glucose, D-fructose, an inositol, and D-mannitol, and L-arabinose, sucrose, rhamnose, and a raffinose are not used. It is not [the existence or nonexistence of use of D-xylose] ascertained.

(5) The dissolution of malic-acid lime (a malic-acid lime agar medium, 27-degree-C culture)

The dissolution of malic-acid lime is accepted around [after culture] the 10th, and the operation is whenever [middle].

(6) The reduction reaction of a nitrate (8 or 27 degrees-C culture of 0.1% potassium-nitrate content peptone water and ISP-culture media)

It is negative.

[0022] If the above description is summarized, on the result, MK299-95F4 share will branch radical viable cell Yam well, will present the shape of JIGUZAKU, and will accept fragmentation. Aerial mycelia have the shape of direct, and the shape of irregular music, and are divided in the fragment of a cylindrical shape - an ellipse, or the spore's structure. A whorl branch, *****, and a spore obtain and a movement sexual spore is not accepted. By various culture media, white aerial mycelium is grown on growth of colorlessness light yellow - light yellow tea. Soluble coloring matter wears yellow or yellow-brown by a part of culture media. Each of generation of melanin Mr. coloring matter, water solubility of starch, and reduction reactions of a nitrate is negative.

[0023] By the way, the MK299-95F4 share fungus body component showed the cell wall type IV mold to the cell wall including the 2,6-diaminopimelic acid, the arabinose, and the galactose of a meso mold. The reducing sugar in [all] a fungus body were A molds containing arabinose and a galactose. The result of a glycoside test was an acetyl mold. Moreover, mycolic acid was not contained, but phospholipid was a PII mold (phosphatidylcholine and strange glucosamine content phospholipid are not included including phosphatidylethanolamine), and main menaquinones were MK-9 (H4), a fatty acid -- 160, i-150, 6:1, and i- 160 and 17:0 were used as the principal component.

[0024] From the above result, MK299-95F4 share is Amycolatopsis (Amycolatopsis). It is thought that it belongs to a group (reference, "International Journal of Systematic Bacteriology" 36 volumes, 29 - 37 pages, 1986). Retrieval of the known strain of the Amycolatopsis group raised reference 2: "International Journal of Systematic Bacteriology" 37 volumes, 292 - 295 pages, 1987) as a kind of a close relationship. Then, MK299-95F4 share and this laboratory preservation strain of Amycolatopsis SURUFUREA are [comparison] under examination to practice. this time — MK299-95F4 share — Amycolatopsis ESUPI (Amycolatopsis sp.) — it is referred to as MK299-95F4. In addition, the deposition application of the MK299-95F4 share was made in National Institute of Bioscience and Human-Technology, Agency of Industrial Science and Technology, and it was entrusted with the deposition number as FERM P-15243 on October 17, Heisei 7.

[0025] In enforcing the approach of the 2nd this invention, the epoxy quinomycin A belonging to the Amycolatopsis group and the production bacillus of B are inoculated into a nutrition culture medium, and it cultivates in this culture medium. The nutrition culture medium used here contains the carbon source and nitrogen source which can carry out utilization of the aforementioned production bacillus as a nutrition component.

[0026] As the nutrient, nutrients which can be assimilated, such as what is usually used as a nutrient of a microorganism, for example, a carbon source, a nitrogen source, and mineral salt, can be used. For example, the mineral salt of dipotassium phosphate, sodium phosphate, salt, calcium carbonate, magnesium sulfate, a manganese chloride, etc. can be used for nitrogen sources, such as the carbon source like fats and oils, such as hydrocarbons, such as grape sugar, a molasses, a dextrin, a glycerol, and starch, and soybean oil, peanut oil, and a peptide, a meat extract, cottonseed powder, a soybean meal, a yeast extract, casein, corn steep liquor, N2-amine, an ammonium sulfate, an ammonium nitrate, and an ammonium chloride and a pan, and a trace element, for example, cobalt, iron etc. be added as occasion demands if a use bacillus can use for producing antibiotic epoxy quinomycin A and B in addition to this as a nutrient, any well-known nutrient can be used.

[0027] Especially the blending ratio of coal of the nutrient like the above in a culture medium is not restrained, can continue broadly and can be changed, and if the optimal presentation and the optimal blending ratio of coal of a nutrient are a person concerned by the epoxy quinomycin A and B production bacillus to be used, an easy bench scale test can determine easily. Moreover, the nutrition culture medium which consists of the above mentioned nutrient can be sterilized in advance of culture, and, as for the front stirrup of this sterilization, it is advantageous to adjust pH of a culture medium later in the range of 6-8, especially the range of pH 6.5-7.5.

[0028] Culture of the epoxy quinomycin A in this nutrition culture medium and B production bacillus can be performed according to the approach usually used in manufacture of the antibiotic by the common Actinomycetes. Usually, it can carry [while cultivating under an aerobic condition is suitable and it stirs and/or] out, carrying out aeration. Moreover, although both stationary culture shaking culture and the submerged culture accompanied by aeration stirring are usable as the culture approach, liquid culture is suitable for mass production method of epoxy quinomycin A and B.

[0029] Although the culture temperature which can be used can be suitably chosen according to the production bacillus which growth of epoxy quinomycin A and B production bacillus is not substantially checked, it is not especially restricted if it is the range which can produce this antibiotic, and is used, especially a desirable thing can mention the temperature within the limits of 25 to 30 degree C. Culture is continuable until epoxy quinomycin A and B are usually fully accumulated. Although the culture time amount changes with the presentation of a culture medium, culture temperature and service temperature, use production strain, etc., the target antibiotic can usually be obtained by culture of 72-120 hours.

[0030] The epoxy quinomycin A in the culture medium under culture and the accumulated dose of B can use staphylococcus AUREUS Smith, and he can do a quantum with the cup method used for the quantum of the usual antibiotic.

[0031] The epoxy quinomycin A and B which were accumulated into the culture in this way

extract this from a culture. After culture and according to the need, after removing a fungus body from a culture by the separation approaches well-known in itself, such as filtration and centrifugal separation, isolation purification of the chromatography using the chromatography and gel filtration which adjusted the culture filtrate to acidity (pH 2-4), and used the solvent extraction using an organic solvent, especially ethyl acetate, etc., adsorption, and ion-exchange ability, and countercurrent distribution can be carried out by using it, being independent or combining, and the target antibiotic can be extracted. As support for chromatographies which has adsorption and ion-exchange ability, activated carbon, silica gel, porous polystyrene-divinylbenzene resin, or various kinds of ion exchange resin can be used. Moreover, from the separated fungus body, the target antibiotic can be extracted from a fungus body by the solvent extraction method using a suitable organic solvent, or the melting by fungus body crushing, and isolation purification can be carried out like the above. The new antibiotic epoxy quinomycin A and B which have the above mentioned property in this way are obtained.

[0032] Furthermore, in the 3rd this invention, the antimicrobial agent which makes an active principle the epoxy quinomycin A expressed with a general formula (I) and (or) epoxy kino mycin B, or those pharmaceutically permissible salts is offered.

[0033] moreover, in the 4th this invention, the antimicrobial agent which makes an active principle the epoxy quinomycin A expressed with a general formula (I) and (or) epoxy kino mycin B, or those pharmaceutically permissible salts is offered.

[0034] in this antimicrobial agent or antimitor agent, the epoxy quinomycin A as an active principle and (or) B, or its salt can be a formal constituent with which it is mixed with the solid-state of pharmaceutically permissible daily use or liquid support, for example, ethanol, water, starch, etc.

[0035] Moreover, Amycolatopsis with the property of producing the epoxy quinomycin A of the aforementioned general formula (I), and B as a new microorganism in the 5th this invention sp.MK299-95F4 A stock is offered.

[0036]

[Embodiment of the Invention] Next, although an example explains this invention to a detail further, this invention is not limited to the following example.

[0037] Example 1 Antibiotic epoxy quinomycin A and manufacture glycerol of B 0.5%, shoe cloth 2% soybean meal 1%, dry yeast 1%, corn steep liquor 0.5% cobalt chloride liquid medium containing 0.001% (it adjusts to pH 7.0) Erlenmeyer flask (500ml **) It pours 110ml distributively at a time, and is a conventional method. It sterilized at 120 degrees C for 20 minutes.

Amycolatopsis cultivated to these culture media at the agar slant medium sp.MK299-95F4 The stock (FERM P-15243) was inoculated and rotary shaking culture was carried out for five days at 30 degrees C after that. This obtained *** culture medium.

[0038] Glycerol 2%, dextrin 2%, bacto-SOITON 1%, powder yeast extract 0.3%, ammonium sulfate 0.2% calcium carbonate Liquid medium which contains one drop of silicone oil 0.2% (it adjusts to pH7.4) Erlenmeyer flask (500ml **) It pours 110ml distributively at a time, and is a conventional method. It sterilized at 120 degrees C for 20 minutes. Then, it inoculated the 2ml of the above-mentioned *** culture medium into these culture media at a time, respectively, and rotary shaking culture was carried out to them for four days at 27 degrees C.

[0039] Thus, the obtained culture medium was filtered and the fungus body was separated. 2.55l of culture filtrates is 6 N-HCl. After making it pH2, it extracted by 2.55l of butyl acetate, and the butyl-acetate layer was dried with anhydrous sodium sulfate. Concentration hardening by drying was carried out under reduced pressure of a butyl-acetate layer, residue was melted to methanol 50ml, it washed twice by hexane 50ml, and concentration hardening by drying was carried out under reduced pressure of a methanol layer.

[0040] If chloroform-methanol-water (50:10:40, 100ml) distributes the obtained residue and concentration hardening by drying is carried out under reduced pressure of a lower layer, it is brown oily matter (0.515g). It was obtained. This oily matter was given to the silica gel column chromatography (Kieselgel 60, the Merck Co. make, 50ml), and sequential elution was carried out with the toluene-acetone mixed solvent (1 three: 10:1, 7:1, 5:1, 2:1). The obtained activity fraction was given to the silica gel column chromatography of these conditions, and sequential

elution was carried out with the toluene-acetone mixed solvent (1 ten: 50:1, 20:1, 7:1). Epoxy quinomycin A and the mixture of B 124mg was obtained. Separation purification was carried out having bet 35mg of this mixture on silica gel TLC (expansion solvent: a chloroform-methanol, 20:1).

[0041] Epoxy quinomycin A is the melting point. It is obtained with the yield of 20mg as light yellow powder of 168 to 173 degree C (decomposition), and epoxy kino mycin B is the melting point. It was obtained with the yield of 10mg as light yellow powder of 178 to 184 degree C (decomposition).

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. *** shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] It is an ultraviolet absorption spectrum in the methanol solution of epoxy quinomycin A.

[Drawing 2] 0.01Ns of epoxy quinomycin A It is an ultraviolet absorption spectrum in a NaOH-methanol solution.

[Drawing 3] It is an ultraviolet absorption spectrum in the 0.01N HCl-methanol solution of epoxy quinomycin A.

[Drawing 4] It is the infrared absorption spectrum measured with the KBr briquette method of epoxy quinomycin A.

[Drawing 5] It is the proton nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy quinomycin A.

[Drawing 6] It is the carbon 13 nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy quinomycin A.

[Drawing 7] It is the ultraviolet absorption spectrum of the methanol solution of epoxy kino mycin B.

[Drawing 8] 0.01Ns of epoxy kino mycin B It is an ultraviolet absorption spectrum in a NaOH-methanol solution.

[Drawing 9] It is an ultraviolet absorption spectrum in the 0.01N HCl-methanol solution of epoxy kino mycin B.

[Drawing 10] It is the infrared absorption spectrum measured with the KBr briquette method of epoxy kino mycin B.

[Drawing 11] It is the proton nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy kino mycin B.

[Drawing 12] It is the carbon 13 nuclear-magnetic-resonance spectrum measured with the heavy methanol solution (internal standard: trimethyl silane) of epoxy kino mycin B.

[Translation done.]